

学校编码: 10384
学号: 33120130154205

分类号_____密级_____
UDC_____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

核磁共振波谱与拉曼光谱技术在肝癌和鼻咽癌研究中的应用

**Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy
and Raman spectroscopy in the studies of hepatic cancer
and nasopharyngeal carcinoma**

陈 阳

指导教师姓名: 陈 忠 教授
冯江华 教授
专 业 名 称: 无线电物理
论文提交日期: 2016 年 10 月
论文答辩时间: 2016 年 12 月
学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: _____
评 阅 人: _____

2016 年 10 月

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

专用缩写词英汉对照表

AFP: alpha-fetoprotein	α -甲胎蛋白
AUC: area under the curve	曲线下面积
CPMG: Carr-Purcell-Meiboom-Gill	CPMG 序列
CRT: classification and regression tree	分类与回归树
DSB: double-strand breaks	双链断裂
DT: decision trees	决策树
FID: free induction decay	自由衰减信号
HCC: hepatocellular carcinoma	肝细胞性肝癌
HMDB: Human Metabolome Database	人类代谢组数据库
KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes	京都基因与基因组百科全书
LDA: linear discriminant analysis	线性判别分析
LDF: linear discriminant function	线性判别函数
NMR: nuclear magnetic resonance	核磁共振
NOESYPR1D: nuclear overhauser enhanced spectroscopy presaturation	一维预饱和压水序列
NPC: nasopharyngeal carcinoma	鼻咽癌
NPs: nanoparticles	纳米粒子
OPLS-DA: orthogonal projection to latent structure with discriminant analysis	正交偏最小二乘-判别分析
PBS: phosphate buffer saline	磷酸盐缓冲液
PCA: principal components analysis	主成分分析
RF: random forest	随机森林
ROC: receiver operating characteristic	受试者工作特征曲线
SERS: surface-enhanced Raman spectroscopy	表面增强拉曼光谱
SVC: support vector classification	支持向量分类

SVM: support vector machines	支持向量机
TACE: transcatheter arterial chemoembolization	肝动脉化疗栓塞
TCA: tricarboxylic acid cycle	三羧酸循环
TSP: sodium 3-(trimethylsilyl) propionate-2,2,3,3-d ₄	2,2,3,3-氘代三甲基硅烷丙酸钠

目 录

专用缩写词英汉对照表	i
中文摘要	ix
ABSTRACT	xi
第一章 绪论	1
1.1 引言	1
1.2 核磁共振波谱概述	2
1.3 拉曼光谱概述	5
1.4 医学代谢组学概述	7
1.5 论文结构	8
第二章 不同转移潜力的肝细胞性肝癌细胞的代谢组学研究	11
2.1 细胞代谢组学研究现状	11
2.2 HCC 细胞模型建立及实验方法	12
2.2.1 细胞株培养	12
2.2.2 样本制备	12
2.2.3 ¹ H NMR 检测	13
2.2.4 数据预处理和模式识别	13
2.3 基于细胞提取物分析 HCC 细胞的代谢轮廓	14
2.3.1 正常肝细胞与 HCC 细胞的代谢轮廓	14
2.3.2 不同转移潜力 HCC 细胞的特征代谢物	17
2.3.3 代谢通路分析	21
2.4 基于培养液分析 HCC 细胞的代谢特征	23
2.5 本章小结	27
第三章 肝细胞性肝癌患者血浆的代谢特征研究	29
3.1 研究背景	29
3.2 实验方法与数据处理	30
3.3 实验对象及临床特征分析	32
3.4 HCC 患者血浆的代谢特征分析	33
3.4.1 HCC 患者与对照组的代谢轮廓比较	33
3.4.2 HCC 患者的特征代谢物	36
3.5 本章小结	40
第四章 肝细胞性肝癌患者经临床治疗后的代谢响应	43
4.1 HCC 临床治疗方法概述	43
4.2 实验对象与方法	44
4.3 行 TACE 对 HCC 患者的代谢轮廓影响分析	46
4.4 肝切除术对 HCC 患者的代谢轮廓影响分析	50

4.4.1 肝切除术患者与其他 HCC 患者及对照的血浆代谢特征比较	50
4.4.2 行 TACE 与肝切除术的代谢通路分析	53
4.5 本章小结	55
第五章 拉曼光谱技术在鼻咽癌细胞研究中的应用	57
5.1 引言	57
5.2 实验对象与方法	58
5.2.1 细胞株培养	58
5.2.2 拉曼光谱测量	58
5.2.3 数据处理与分析	59
5.3 单个 NPC 细胞与正常鼻咽细胞的拉曼光谱	60
5.4 基于三种分类算法的细胞拉曼光谱鉴别	63
5.4.1 利用全谱数据的算法性能比较	63
5.4.2 利用谱带数据的算法性能比较	68
5.5 本章小结	70
第六章 鼻咽癌细胞放射敏感性的基因组 DNA 损伤研究	71
6.1 引言	71
6.2 实验对象与方法	73
6.2.1 CNE2 细胞培养与 X 射线辐照方法	73
6.2.2 基因组 DNA 的提取与纳米颗粒制备	73
6.2.3 SERS 检测与数据处理	75
6.3 辐照剂量及孵育时间对 CNE2 细胞基因组 DNA 损伤的影响	76
6.3.1 不同辐照剂量下基因组 DNA 的 SERS 光谱分析	76
6.3.2 基于模式识别方法的基因组 DNA 的 SERS 光谱鉴别	81
6.4 本章小结	85
第七章 总结与展望	87
7.1 总结	87
7.2 展望	88
参考文献	91
论文发表与获奖情况	111
致 谢	113

CONTENTS

Acronyms	i
Chinese abstract	ix
English abstract.....	xi
Chapter 1 Preface.....	1
1.1 Introduction.....	1
1.2 Overview of NMR spectroscopy	2
1.3 Overview of Raman spectroscopy	5
1.4 Overview of medical metabonomics.....	7
1.5 Structure of this dissertation.....	8
Chapter 2 Metabolic study of HCC cells with different metastatic potentials.....	11
2.1 Current status of metabolic research on cells.....	11
2.2 Constrection of HCC cell model and experimental methods.....	12
2.2.1 Cell culture.....	12
2.2.2 Sample preparation	12
2.2.3 ¹ H NMR measurement.....	13
2.2.4 Data preprocessing and pattern recognition.....	13
2.3 Metabolic profiles of HCC cells based on cell extracts.....	14
2.3.1 Metabolic profiles of normal hepatocyte and HCC cells.....	14
2.3.2 Characteristic metabolites of HCC cells related to metastasis.....	17
2.3.3 Pathway analysis.....	22
2.4 Metabolic profiles of HCC cells based on cultured medium.....	24
2.5 Conclusions.....	28
Chapter 3 Metabolomic characteristic study of plasma from HCC patients	31
3.1 Background	31

3.2 Experimental methods and data processing	32
3.3 Clinical subjects and characteristic	34
3.4 Metabolomic analysis of plasma from HCC patients	35
3.4.1 Metabolic profiles of HCC patients and healthy controls	35
3.4.2 Characteristic metabolites for HCC patients	38
3.5 Conclusions	42
Chapter 4 Metabolic response of HCC patients to clinical treatments	
.....	45
4.1 Overview of clinical treatments for HCC	45
4.2 Clinical subjects and methods	46
4.3 Metabolic profiling of HCC patients response to TACE	48
4.4 Metabolic profiling of HCC patients response to surgery	52
4.4.1 Metabolic characteristic of HCC patients undergone surgery compared to other patients and healthy controls	52
4.4.2 Analysis of pathways related to TACE and surgery	55
4.5 Conclusions	57
Chapter 5 Application of Raman spectroscopy in the study on NPC cells	59
5.1 Introduction	59
5.2 Experimental and methods	60
5.2.1 Cell culture	60
5.2.2 Raman spectroscopy for data acquisition	60
5.2.3 Data processing and analysis	61
5.3 Raman spectra of single NPC cell and nasopharyngeal normal cell	62
5.4 Identification of cell Raman spectra based on three classification algorithms	65
5.4.1 Comparison of algorithm performance using whole spectral data	65
5.4.2 Comparison of algorithm performance using band data	70

5.5 Conclusions	72
Chapter 6 Genomic DNA damage of NPC cells associated with radiosensitivity	75
6.1 Introduction.....	75
6.2 Experimental and methods	77
6.2.1 CNE2 cell culture and X-ray irradiation.....	77
6.2.2 Extraction of genomic DNA and preparation of NPs	77
6.2.3 SERS measurement and data processing	79
6.3 Effects of radiation doses and incubation time on genomic DNA damage of CNE2 cell line.....	80
6.3.1 Analysis of SERS spectra from genomic DNA under different radiation dosages.....	80
6.3.2 Identification of SERS spectra from genomic DNA via pattern recognition	85
6.4 Conclusions.....	90
Chapter 7 Summary and prospect	93
7.1 Summary.....	93
7.2 Prospect.....	94
References	97
Publications and awards	111
Acknowledgements	113

厦门大学博硕士论文摘要库

作者姓名：陈阳

论文题目：核磁共振波谱与拉曼光谱技术在肝癌和鼻咽癌研究中的应用

作者简介：陈阳，男，1985 年 11 月出生，2013 年 9 月师从于厦门大学陈忠教授，于 年 月获博士学位。

中文摘要

癌症是全人类共同面临的健康问题。在我国东南沿海地区，肝细胞性肝癌（hepatocellular carcinoma, HCC）和鼻咽癌（nasopharyngeal carcinoma, NPC）形势尤为紧迫。当前针对 HCC 和 NPC 的诊疗手段因受各种因素影响而作用十分有限。针对区域性重要恶性肿瘤疾病的实验研究和临床需求出发，本文利用核磁共振波谱、拉曼光谱和表面增强拉曼光谱等技术分别研究 HCC 和 NPC 的血液、细胞株以及亚细胞组分等生化样本的谱学特征，结合多种统计学方法从诊、疗两个层面探索相关的生物标记物，主要成果包括：

一、以 HCC 细胞株及 HCC 患者为研究对象，分别开展不同转移潜力细胞和患者血液的代谢特征研究。将基于核磁共振的代谢组学方法引入到 HCC 细胞株的转移潜力研究中，通过探索正常肝细胞和 HCC 的不同转移潜力细胞株的代谢特征，帮助了解 HCC 转移形成的分子机制。结果表明 HCC 细胞株的转移演化涉及若干氨基酸代谢、生物合成或降解，以及半乳糖代谢等多种途径，筛选出包括乙酸、肌酸、葡萄糖、甘油和肌醇等在内的 12 种特征代谢物能实现 HCC 细胞株与正常肝细胞之间的有效区分。而在对 HCC 患者的研究中，通过血液的分析结果反映出 HCC 患者的代谢异常主要体现在高的葡萄糖消耗以及在有氧糖酵解过程异常的中间产物与终产物，进而引起增强的脂质代谢与大量的营养物质消耗，这在一定程度上与疾病引发的肝损伤有关。据此构建的分类器针对 HCC 患者的诊断灵敏度和特异性分别达到 100% 和 81.08%。在此基础上，本文探讨 HCC 患者对主流治疗手段肝切除术和肝动脉化疗栓塞的整体代谢响应。结果证实一方面复发或转移的 HCC 在三羧酸循环以及氧化磷酸化作用方面表现更为活跃，另一方面肝切除术后 HCC 患者的能量代谢总体得到提升。进而得到对治疗结果响应不敏感的代谢通道。

二、虽然 NPC 细胞株与正常鼻咽细胞株的拉曼光谱轮廓并无差别，但在组

织学异常敏感的谱带 1449 cm^{-1} 与 1658 cm^{-1} 相对含量上表现出显著差异。基于此，本文利用决策树、支持向量机和线性判别分析等三种算法建立 NPC 细胞株与正常鼻咽细胞株的拉曼光谱分类模型，这些模型的分类性能存在明显差别，其中决策树算法表现最佳。不仅如此，我们还利用表面增强拉曼光谱技术探讨 CNE2 细胞株经 X 射线辐照后的基因组 DNA 变化特征。研究发现，谱带 789 cm^{-1} （来自碱基 C 和 T，骨架）和谱带 1333 cm^{-1} （来自碱基 A 和 G）的强度变化意味着骨架损伤和碱基的无堆垛，而且辐照之后可能同时触发 DNA 损伤修复机制，并产生一系列与辐照剂量和孵育时间相关联的生物效应。

总体来说，本文的工作将极大地促进 HCC 和 NPC 的临床诊断与治疗的研究与发展，并发挥重要作用。

关键词：肝细胞性肝癌；鼻咽癌；生物标记物

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.